



| | |
|--------------|--|
| Title | NKX2-1 (TTF-1) gene re-expression induces cell death through apoptosis and necrosis in dedifferentiated thyroid carcinoma cells(内容・審査結果要旨) |
| Author(s) | 伊藤, 祐子 |
| Citation | |
| Issue Date | 2020-09-30 |
| URL | http://ir.fmu.ac.jp/dspace/handle/123456789/1336 |
| Rights | Fulltext: This is the pre-peer reviewed version. Published version is "PLoS One. 2021 Nov 8;16(11):e0259558. doi: 10.1371/journal.pone.0259558. © 2021 Ito et al.", used under CC BY 4.0 |
| DOI | |
| Text Version | ETD |

論文内容要旨

| | |
|--|---|
| しめい 氏名 | いとう ゆうこ 伊藤 祐子 |
| 学位論文題名 | NKX2-1 re-expression induces cell death through apoptosis and necrosis in dedifferentiated thyroid carcinoma cells (NKX2-1 再発現によるアポトーシスとネクローシスを介した脱分化甲状腺癌細胞の細胞死誘導効果) |
| <p>【目的】 NK2 homeobox 1 (NKX2-1) は甲状腺特異的転写因子の一つであり、甲状腺の形態形成や機能維持に重要な役割を果たす。NKX2-1 は甲状腺以外に肺と神経系にも発現しており、NKX2-1 と甲状腺癌および肺癌との関連が報告されている。甲状腺癌においては、分化度の低下に平行して NKX2-1 発現は低下する。本研究では、NKX2-1 非発現脱分化甲状腺癌細胞において NKX2-1 再発現による細胞死誘導効果を詳細に解析し、その機序について検討した。</p> <p>【方法】 甲状腺乳頭癌患者組織由来の、NKX2-1 発現が低下している細胞株 BHP18-21v を用いた。NKX2-1 遺伝子導入に <i>Nkx2-1</i> 発現アデノウイルスベクター (AdTTF-1) を用い、コントロールとして <i>LacZ</i> 発現アデノウイルスベクター (AdLacZ) を用いた。AdTTF-1 感染後の生細胞測定に CCK-8 を使用し、アクリジンオレンジ・エチジウムブロミド二重染色、Hoechst 33342 染色、アガロースゲル電気泳動、およびアネキシン V によるリアルタイムアッセイの 4 法でアポトーシスとネクローシスの有無を調べた。GeneChip による遺伝子発現解析と real-time PCR により、NKX2-1 遺伝子導入により発現が増加する遺伝子を探索した。さらにそれらの遺伝子の発現を siRNA により抑制し、AdTTF-1 感染後の生細胞、アポトーシスおよびネクローシスを同様に測定した。</p> <p>【結果】 AdTTF-1 感染細胞において時間依存性、ウイルス MOI 依存性に生細胞は有意に減少した。また、4 法いずれのアッセイにおいても AdTTF-1 感染細胞ではアポトーシスおよびネクローシスの両者が検出された。AdLacZ に比し AdTTF-1 感染細胞において arginase 2 (<i>ARG2</i>)、regulator of G protein signaling 4 (<i>RGS4</i>) および <i>RGS5</i> mRNA の顕著な増加を認めた。ARG2 および RGS4 に対する siRNA 導入細胞では、AdTTF-1 感染後の生細胞は有意に増加した。また、これらの細胞においてアポトーシスはそれぞれ $82.4 \pm 3.7\%$ および $71.5 \pm 5.4\%$、ネクローシスは $78.7 \pm 6.1\%$ および $62.3 \pm 8.6\%$ に抑制された。</p> <p>【結語】 <i>Nkx2-1</i> 遺伝子導入により、アポトーシスおよびネクローシスの両者を介して NKX2-1 非発現脱分化甲状腺癌細胞の細胞死が誘導された。また、<i>ARG2</i> 遺伝子と <i>RGS4</i> 遺伝子が NKX2-1 再発現によるアポトーシスおよびネクローシスに関与している可能性が示唆された。</p> | |

学位論文審査結果報告書

令和2年7月3日

大学院医学研究科科長様

下記の通り学位論文の審査を終了したので報告します。

審査結果要旨

伊藤祐子氏

NKX2-1 re-expression induces cell death through apoptosis and necrosis in dedifferentiated thyroid carcinoma cells

(NKX2-1 再発現によるアポトーシスとネクローシスを介した脱分化甲状腺癌細胞の細胞死誘導効果)

NKX2-1 (TTF-1) 非発現脱分化甲状腺癌細胞に *NKX2-1* 遺伝子導入による細胞死誘導効果を明確に示したものである。本論文では1) 本遺伝子を甲状腺癌脱分化癌細胞 BHP18-21v に導入することでアポトーシスとネクローシスの両者を介し細胞死が誘導されること、2) 本遺伝子が *ARG2*、*RGS4*、*RGS5* 遺伝子の著明な発現増加を認めたこと、3) *ARG2*、*RGS4* 遺伝子が本遺伝子導入による細胞死誘導に強く関与していることが示された。今回は同遺伝子導入による細胞死に至る明確な機序と同遺伝子の甲状腺癌細胞への進展抑制の可能性を示したもので、興味深くまた意義深いものとする。遺伝子導入をはじめ、実験手技に関しても明確であり、得られた知見は高く評価されるものである。本遺伝子は甲状腺と肺に存在し、肺での機能に関しては研究が進んでいるものの、甲状腺に関しては少なかった。甲状腺癌は極めて予後良好な分化癌が低分化癌や未分化癌に転化し予後不良になることが知られていたが、本研究はこれらの脱分化甲状腺癌に細胞死を誘導し、甲状腺癌進展抑制の可能性を高めた論文である。今後臨床応用にはさらなる検討が必要と思われるが、本研究に関しては、十分に学位授与に値するものとする。

なお、さらに良い学位論文にするために、いくつかの検討をお願いした。代表的なものを下記に示す。

- 1) NKX2-1 発現細胞で発現上昇した RNA の全貌と、確認した遺伝子群。
- 2) 脱分化誘導の実際
- 3) アポトーシス、ネクローシスについて。説明を明確に。
- 4) NKX2-1 遺伝子を導入に関する効果の違い。
- 5) 脱分化癌株について

6) BHP18-2 1v および BHP7-13 細胞の詳細

7) rat *Nkx2-1* を使用しているのは？

その他、論文記載上の微細な点についても指導助言をしたが、全てに伊藤氏は真摯に詳細な回答と科学的知見を補充し、申請論文へも反映し、読み応えのある論文になった。あらためて本論文が学位授与に値するものと判断する

| | | |
|--------|----|-------|
| 論文審査委員 | 主査 | 鈴木真一 |
| | 副査 | 本間美和子 |
| | 副査 | 鈴木 理 |